

Современный метод в диагностике вируса папилломы человека при заболеваниях шейки матки

П.Н. Веропотвелян¹, И.С. Цехмистренко², Н.П. Веропотвелян¹

¹«Межобластной центр медицинской генетики и пренатальной диагностики», г. Кривой Рог

²Перинатальный центр, г. Киев

В данной обзорной статье изучено множество публикаций, рассмотрены новейшие молекулярные маркеры и их роль в прогнозировании течения неопластического процесса шейки матки.

В настоящее время активно изучаются микро-РНК как мощные посттранскрипционные регуляторы экспрессии генов, способные одновременно моделировать ряд генов-мишеней. В литературе выделены микро-РНК, экспрессия которых изменяется при ВПЧ (вирус папилломы человека), ассоциированных с заболеваниями шейки матки.

В публикациях делается акцент, что нарушение регуляции микро-РНК в тканях может играть важную роль в онкогенезе рака шейки матки (РШМ), потому исследователи информируют, что микро-РНК в качестве как прогностического фактора, так и терапевтической опции РШМ, остаются чрезвычайно актуальными.

Ключевые слова: вирус папилломы человека, цервикальная интраэпителиальная неоплазия, онкогены, экспрессия гена, рак шейки матки.

В мире огромное количество людей в момент полового акта, контактируют со множеством микроорганизмов и вирусов, которые могут вызывать изменения функций систем организма, приводя к различному по тяжести и длительности заболевания, кроме того, к неблагоприятным последствиям этих болезней.

Одной из основных причин заболевания является инфицированность вирусом папилломы человека (ВПЧ) базальных эпителиальных клеток шейки матки, сопровождающаяся репликацией вирусной ДНК и синтезом ранних вирусных онкопротеинов Е5, Е6 и Е7, способных подавить клеточную дифференцировку, нарушить нормальные процессы апоптоза и пролиферации, вызвать повреждение хромосом и инициировать гиперпластические процессы в пораженной ткани вплоть до рака шейки матки [12, 17].

Согласно данным Control and Prevention (CDC), США United States, 2004–2008, ежегодно диагностируют около 33 300 случаев ВПЧ-ассоциированного рака [7], из них: 21 200 случаев ВПЧ-ассоциированного рака среди женщин и примерно 12 100 – среди мужчин. Рак шейки матки (РШМ) является наиболее распространенной формой ВПЧ-ассоци-

ированного рака у женщин. Страшная статистика – в мире каждый год диагностируют 470 000 новых случаев РШМ, 233 000 из которых заканчиваются летальным исходом.

К примеру, в США в 2012 г. зарегистрировано 13 340 новых случаев РШМ, в мире – 528 000. В 2013 г. в США зарегистрировано 12 340 новых случаев РШМ, около 4030 пациентов умерли от него. РШМ является четвертой наиболее распространенной формой рака у женщин и седьмой в целом.

Заболеваемость РШМ в странах Европы различна, так, в странах восточной Европы она выше в 2–5 раз, чем в первоначальных 15 государствах Европейского Союза. Эти различия в значительной степени обусловлены наличием или отсутствием программ профилактики РШМ в стране. Отсутствие эффективных моделей прогнозирования исхода РШМ делает трудным в определении индивидуальных протоколов лечения женщин [11].

Предраковые заболевания, РШМ и их патогенез

Castle и соавторы [8] информируют, что персистирующие цервикальные инфекции, вызванные высокоонкогенными типами ВПЧ, играют ключевую роль в развитии РШМ и определяют важность их выявления для предотвращения. Инфицирование ВПЧ начинается с внедрения частиц в недифференцированные базальные эпителиальные клетки через ссадины или раны.

Исследования Н. Wang и соавторов [9] свидетельствуют, что амплификация внехромосомной вирусной ДНК и экспрессия капсидных белков происходит последовательно в средних и поверхностных клетках многослойного плоского эпителия.

L. Massad и соавторы (2013) [13] сообщают, что стойкое активное заражение ВПЧ высокого риска (ВПЧ ВР) может привести к аномальному увеличению глубины пролиферативной активности в многослойном плоском эпителии шейки матки, то есть к цервикальной интраэпителиальной неоплазии (CIN) 1-й, 2-й или 3-й степени. Зона аномально пролиферирующих клеток гистологически характеризуется при CIN1, ограничена по глубине 1/3 эпителия. А что касается CIN2 и CIN3, то отличаются проникновением в более глубокие слои эпителия: на 2/3 его глубины (CIN2) и глубже (CIN3). CIN2 и CIN3 развиваются у 10–20% пациенток с CIN [11].

Таблица 1

Сравнение различных классификаций неопластических заболеваний шейки матки [45]

По Папаниколау	TBS	CIN	Дисплазия
Класс 1	Норма	Норма	Норма
Класс 2	ASC		Атипия
Класс 3	LSIL	CIN I	Легкая дисплазия
	HSIL	CIN II	Умеренная дисплазия
		CINIII	Тяжелая дисплазия
Класс 4			Карцинома in situ
Класс 5	Инвазивный рак	Рак	Инвазивный рак

X. Wang и соавторы [15] информируют, что при затрагивании неопластических процессов в подлежащую строму CIN3 превращается в инвазивный РШМ. Основой патогенеза вирус-индуцированного онкогенеза, как сообщают M. Scheffner и соавторы [16], является интеграция вирусной ДНК к хромосомному инфицированию клеток с активным синтезом онкобелков E6 и E7, которые нарушают нормальный процесс дифференцировки клеток. Эти вирусные онкобелки E6 и E7, продуцируемые ВПЧ ВР, соответственно дисинхронизируют оба этих основных клеточных белка-супрессора опухолей: p53 и белок ретинобластомы (Rb).

Выявлено, что онкобелок E6 вызывает деградацию белков-супрессоров генов p53 и VAX, предотвращает апоптотические процессы, деградацию тирозинкиназы, активацию теломеразы и угнетение выработки интерферона. В этом сложном механизме E7 взаимодействует с продуктами гена-супрессора Rb 105 и способствует высвобождению транскрипционного фактора E2F, стимуляции клеточной пролиферации, синтезу p16INK4a.

Как иллюстрируют A. Roman, K. Munger [14], эти два вирусных белка функционируют в продуктивную фазу инфекции в постмитотических дифференцированных шиповатых клетках, но тем не менее вторичное повышение экспрессии E6 и E7 в недифференцированных базальных или стволовых клетках нарушает регуляцию клеточного цикла, подавляет клеточную дифференцировку, вызывает повреждение хромосом и предотвращает апоптоз, в результате чего клетки эпителия преобразуются в клетки РШМ [14, 16]. Следовательно, в заключении экспрессия ВПЧ ВР онкобелков E6 и E7 с течением времени приводит к РШМ [15].

Предраковые заболевания, РШМ и их диагностика

Папилломавирусные инфекции подразделяют на клинические, субклинические и латентные формы. Поражения при ВПЧ-инфекции представляют собой удлинённые сосочки слизистой оболочки генитального тракта, локализованные в области проекции центрального капилляра, которые часто бывают мультифокальными.

ВПЧ может быть обнаружена с большей долей вероятности, если практический врач уделяет повышенное внимание слизистой оболочке влагалища. Наличие кондилом в верхней трети влагалища считается высоким фактором риска, так как серотипы ВПЧ, определяемые в этом случае, чаще относятся к наиболее потенциально малигнизирующим (генотип 16, 18 и 31).

В 20-х годах XX столетия Джорджем Пананиколу разработан ПАП-тест. Бактериоскопическое исследование отделяемого с шейки матки значительно снизил уровень заболеваемости РШМ. Но, тем не менее, ограничения, связанные с точностью метода и выявлением особенностей каждого отдельного случая, привели к необходимости поиска особых биомаркеров дисплазии клеток плоского и железистого эпителия шейки матки. Исследователи надеются, что эти биомаркеры можно будет использовать вместе с обычными массовыми обследованиями пациенток с целью профилактики злокачественных заболеваний шейки матки, обусловленных ВИЧ-инфекцией.

Впервые в 1992 г. С. Meijer и соавторы [10] описали принцип скрининга РШМ, который базируется, кроме того, на об-

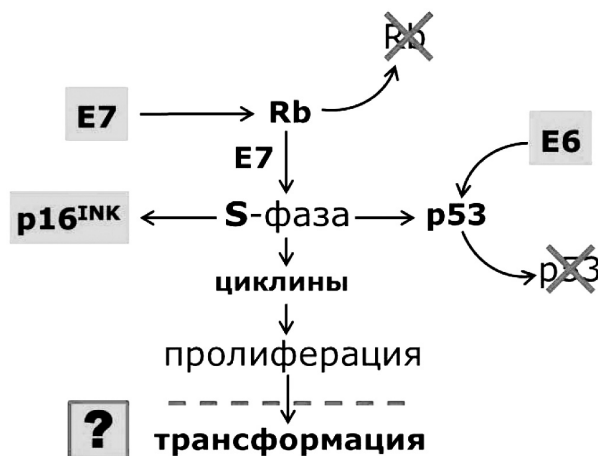


Рис. 1. Молекулярные биомаркеры вирусного и клеточного происхождения – взаимосвязь с механизмом развития РШМ (Ibanez, 2011)

наружении персистенции ВПЧ. Распространенность ВПЧ коррелирует с увеличением частоты CIN. M. Klap и соавторы [18] в своих исследованиях проиллюстрировали, что неопластические процессы шейки матки связаны с длительной персистенцией ВПЧ ВР, в связи с чем был предложен скрининг РШМ, основанный на обнаружении ВПЧ. Затем авторы [18] привели убедительные доказательства прогностической ценности определения ВПЧ, представленные в результатах 10-летнего наблюдения 20 810 пациенток 16-го генотипа, у 13,6% с ВПЧ 18-го генотипа (отрицательных на ВПЧ-16), и только у 0,8% ВПЧ-отрицательных обследуемых.

Однако существует мнение, что ВПЧ-инфекция сама по себе недостаточна для развития злокачественных изменений. Нужны наследственные факторы, которые могут стать прогностическими и диагностическими маркерами прогрессирования процесса и основой для создания новых тестовых систем для скрининга.

В 2005 г. ряд исследователей – N. Murphy и соавторы [19] – проводили изучение 3 потенциальных биомаркеров CIN: p16 (INK4A), CDC6 и MCM5. Особенно надежным из них оказался p16 (INK4A), уровни экспрессии которого изменялись при всех видах плоскоклеточных и железистых поражений шейки матки и были тесно связаны с высоким риском ВПЧ-инфекции. Но в то же время низкая способность p16 (INK4A) к избирательному выявлению CIN 3 и сообщение о его гиперэкспрессии в доброкачественных железистых образованиях, таких, как метаплазия эндометрия, намного снизили его шансы стать самостоятельным тестом для прогноза развития РШМ из дисплазии шейки матки.

Проведенные исследования p16 (INK 4A) R. Klaes и соавторы [20] продемонстрировали важность использования данного биомаркера для диагностики CIN, что может значительно снизить количество сомнительных цитологических мазков в оценке прогноза течения ВПЧ-инфекции. Вместе с тем, как отмечают V. Prilepskaya, N. Nazarova [11], в отечественной литературе есть только единичные исследования по изучению особенности маркера к клеткам РШМ и совсем нет работ, отражающих его уровень при разных стадиях CIN

Таблица 2

Опасность малигнизации [43]

Риск	Типы
Низкий	6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81, CP6108
Потенциально высокий	26, 53, 66
Высокий	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, 82

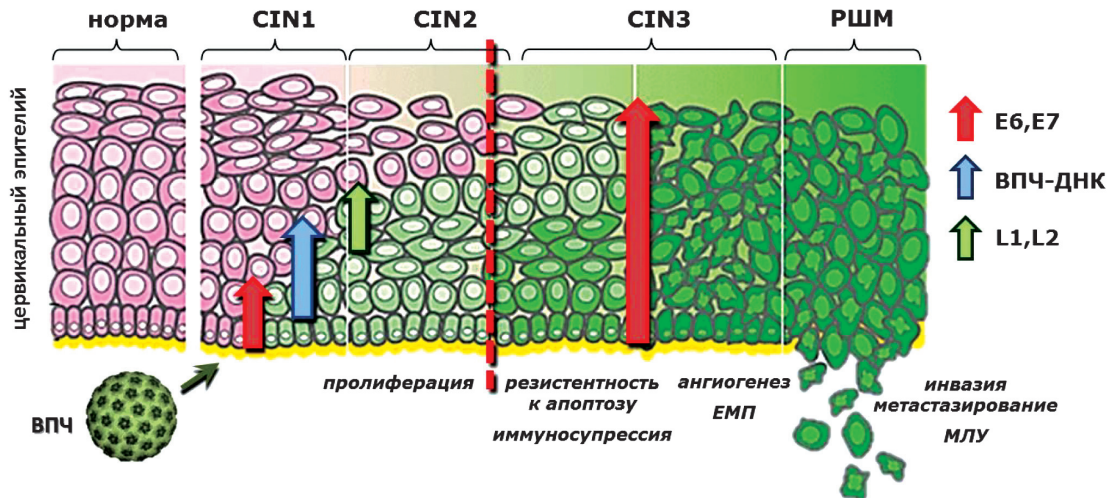


Рис. 2. Изменение молекулярного профиля на различных этапах развития РШМ. Цветными стрелками показана экспрессия маркеров вирусного происхождения (длина стрелки отражает уровень и локализацию экспрессии). L1, L2 – белки капсида ВПЧ. Красной пунктирной линией отмечен этап интеграции вирусного генома в геном клетки-хозяина, который предположительно служит демаркационной линией между доброкачественными и злокачественными изменениям и (Gius, 2007; Doorbar, 2006)

в качестве предиктора малигнизации. Затем авторы [11] также отмечают, что для диагностики и прогнозирования течения ВПЧ-инфекции и неопластических процессов изучаются различные молекулярно-генетические маркеры, в том числе и микро-РНК (миРНК), которые могут иметь важное клиническое значение.

Проведенные исследования показали, что миРНК функционируют в качестве особого компонента естественной защиты клетки от вирусной инфекции. В данный период иллюстрируются физиологические функции и гены-мишени множества миРНК, но тем не менее, их роль в предвидении течения неопластических процессов шейки матки и РШМ практически остается открытой и, безусловно, для практического врача с научной и практической целью представляет огромный интерес.

Характеристика миРНК

Исследователями R. Lee и соавторами, B. Reinhart [21, 22] в 1993 г. миРНК впервые была открыта в нематоде *Caenorhabditis elegans* и охарактеризована как маленькая, некодирующая РНК-молекула, регулирующая белковую экспрессию гена *lin-14*. В. Wightman и соавторы через некоторое время была обнаружена вторая миРНК (*let-7*).

В. Wightman и соавторы, M. Lagoc-Quintana [24, 25] эти два открытия миРНК настроили продолжать работу по открытию новых миРНК, и в ближайший период был охарактеризован большой класс малых некодирующих РНК с разнообразным спектром биологических функций, таких, как регуляция клеточного цикла, пролиферации и гибели клеток, гематопоза и канцерогенеза.

По своей характеристике миРНК представляют собой 22–25 нуклеотидных некодирующих РНК, которые контролируют экспрессию генов у многоклеточных животных, растений, вирусов и бактерий, как правило, на транскрипционном и посттранскрипционном уровне. Более 700 миРНК были выявлены и изучены до настоящего времени. Проведенный анализ результатов публикаций иллюстрирует, что некоторые миРНК регулируют процесс канцерогенеза. Исследователи предполагают, что они играют главную роль в биологии стволовых клеток, ангиогенезе, эпителиально-мезенхимальной трансформации и метастазировании. Еще L. Lu и соавторы [26] указывали, что миРНК в качестве диагностики онкопатологии применяется с 2005 г. при прогнозировании развития предраковых процессов и рака.

В настоящее время основным методом для анализа миРНК является секвенирование, микротравматический ана-

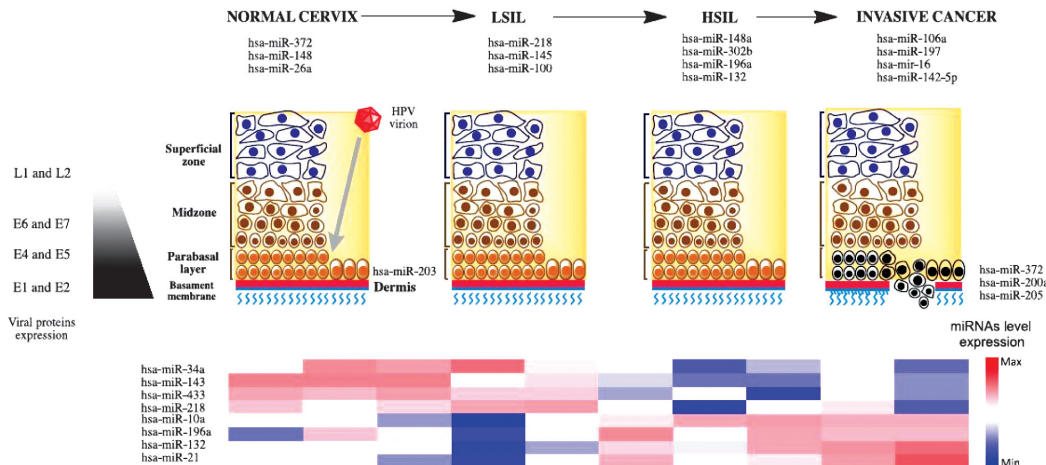


Рис. 3. Экспрессия миРНК в развития РШМ [44]

лиз и подход, основанный на полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени. A. Pasquinelli и соавторы [34] отмечают, что материал, используемый для этих исследований, представляет свежемороженые образцы ткани, требующие особых условий хранения, кроме того, фиксированные в формалине и залитые парафином (ФФЗП) образцы.

Как известно, ткани состоят из клеток разных типов, каждая из которых обладает определенным профилем генной экспрессии. Для чистоты эксперимента при формировании гетерогенных образцов опухоли следует рассматривать клеточные линии опухоли в отдельные клеточные типы, которые могут присутствовать в образце опухоли и отдельные клеточные типы или определять клеточную локализацию миРНК методом гибридизации *in situ* [11].

В прогнозировании неопластических процессов шейки матки – важную роль играют миРНК.

Многочисленные публикации свидетельствуют, что в проведенных исследованиях уровни экспрессии некоторых миРНК использованы для прогнозирования исходов таких видов рака, как рак легких и рак грудной железы. Но, в то же время в данный период есть мало результатов о возможности использования миРНК в прогнозировании предрака и РШМ.

По данным литературы, видно, что одним из препятствий в исследовании биомаркеров РШМ является небольшой объем опухолевых тканей, так как большинство цервикальных биоптатов имеют малый размер. Кроме того, как отмечают V. Prilepskaya, N. Nazarova и соавторы [11], большинство препаратов тканей РШМ хранятся в виде ФФЗП, что приводит к серьезной деградации РНК в опухолевых клетках. Все это сильно осложняет профилирование экспрессии миРНК в тканях РШМ. В связи с этим для решения этой проблемы X. Wang [35] разработал новый метод определения профилирования экспрессии миРНК на основе ПЦР, превосходящий по чувствительности и специфичности традиционные методы профилактики. Представленный новый метод, как отмечает автор [35], также успешно используется для профилирования незначительного количества РНК в клинических образцах очень низкого качества.

В некоторых публикациях исследователи используют данный метод для профилирования миРНК ФФЗП-образцов РШМ с целью идентификации миРНК, с целью прогнозирования выживаемости при РШМ. А также прогностическая ценность миРНК при РШМ была подтверждена при исследовании контрольных ФФЗП и быстро замороженных образцов. Следовательно, предложена новая перспективная стратегия выявления пациенток с высоким риском неблагоприятного исхода при РШМ и требующих индивидуального подхода в лечении.

В работе ряда авторов акцентировалось предположение, что miR-200 считается ведущим регулятором нескольких онкогенов и может играть главную роль в возникновении РШМ. M. Kogral и соавторы, P. Gregor и соавторы [1, 2] проинформировали, что миРНК семейства miR-200 препятствует процессу эпителиально-мезенхимального подхода (который рассматривается как важный шаг, инициирующий метастазирование опухоли), напрямую снижает экспрессию E-кадгеринтранскрипционных репрессоров ZEB1 и ZEB2.

T. Do и соавторы, B. Tang и соавторы, J. Ligschutz и соавторы [3–5] определили, кроме ZEB1 и ZEB2, и другие гены-мишени miR-200a, участвующие в процессе метастазирования РШМ. В частности, TGF β (трансформирующий фактор роста β 2) повышает скорость метастазирования разнообразных видов рака; EХОС5 (компонент 5-го экзоцистового комплекса) участвует в системе ремоделирования актинового цитоскелета и играет важную роль в биогенезе полярности поверхности эпителиальной клетки. Проведенное исследование, кроме того, продемонстрировало, что miR-200a также может влиять на

гены, которые обуславливают метастатический потенциал клеток РШМ. Значит, miR-200a может свободно потенциально выступать в качестве базового супрессора метастазирования РШМ. К примеру, во время гиперэкспрессии miR-200a подвижность клеток РШМ заметно уменьшилась.

Таким образом, одной из потенциальных стратегий противоопухолевой терапии возможны манипуляции с экспрессией miR-200a. Этот факт предвещает, что введение miR-200a является перспективной современной стратегией лечения РШМ.

J. Kota и соавторы, S. Valastyan и соавторы [6, 27] ранее проводили такое же лечение, которое показало, что введение с терапевтической целью miR-26a и miR-31 подавляет опухолевый процесс при раке печени и раке грудной железы соответственно. Затем через 2 года в 2011 г. B. Li и соавторы [28] подтвердили роль miR-100 в цервикальном канцерогенезе у женщин с CIN и РШМ. Затем автор [28] информирует, что экспрессия белка PLK1 отрицательно коррелировала с экспрессией miR-100 у женщин с CIN3, в то время как вирусные онкобелки E6/E7 не оказывали прямого влияния на регуляцию и экспрессию миРНК. Следовательно, ученые [28] считают, что экспрессия miR-100 влияет на клеточную пролиферацию, апоптоз и уровень белка PLK1 у пациенток с CIN.

В то же время ряд исследователей [29–31] продемонстрировали противоречивые результаты: оба вирусных онкобелка (E6 и E7) изменяли экспрессию miR-92, но для сверхэкспрессии miR-25 достаточно одного онкобелка E7. Проведенный анализ результатов исследований Z. Zheng, X. Wang (2011), V. Hua и соавторов (2013) иллюстрирует, что миРНК 25, 27, 92a и 378 являются онкогенными, а миРНК 16, 22, 29, 100 подавляют опухолевый процесс, так как изменение их экспрессии происходит под влиянием белков p53, E2F и c-Мус [32, 33].

В научно-исследовательском центре исследователи, применяя микроматричный анализ, провели сравнительную оценку профилей миРНК кератиноцитов влагалища у женщин с ВПЧ-инфекцией. В результате при наличии ВПЧ высоко онкогенных типов отмечалось изменение профилей экспрессии ряда миРНК. Затем исследователи [32], применяя нозерн-блоттинг, подтвердили нарушение экспрессии miR-16, -25, -22 и -29 в кератиноцитах влагалища у женщин с высоко онкогенными типами ВПЧ. Полученные результаты – изменение экспрессии miR-25, -22, -92a и -29a более чем в 1,5 раза позволило ученым предложить их в качестве диагностического маркера CIN различной степени тяжести и РШМ.

S. Marchini и соавторы (2011), C. Della Vittoria Scarpati и соавторы (2012) [36, 37] предложили, что миРНК свободно имеет право выступать в качестве как онкогена, так и онкосупрессора, которое позволяет предположить их в качестве биомаркеров для ранней диагностики предраковых заболеваний и рака. Исследователи [36–38] отмечают, что нарушение регуляции экспрессии miR-9, -127, -145, -146a, -199a, -200a, и 886-5p возможно связано с развитием ВПЧ-ассоциированных заболеваний шейки матки (CIN, РШМ). А также у 171 женщины с CIN обнаружено снижение экспрессии miR-218 по сравнению с контрольной группой (отсутствие ВПЧ).

E. Wang и соавторы (2011) [39] отмечают, что повышенная экспрессия miR-375 способствовала подавлению пролиферации клеток и дальнейшему переходу опухоли в стадию *in situ*. Представляет научно-практический интерес исследователей [40], которые сделали следующий вывод, что повышенная экспрессия miR-5p и miR-127 со снижением экспрессии белка BAX, апоптозом и усиленной пролиферацией атипичных клеток наблюдается у пациенток с персистенцией ВПЧ 16-го типа. Повышение экспрессии miR-127 у 31 женщины с РШМ на ранней стадии, кроме того, ассоциировано с метастазированием в лимфоузлы ($p=0,006$).

Проанализированы 102 случая РШМ, исследователями Х. Ну и J. Schwarz [41] предложили применять модель диагностической регрессии на основе miR-200a и miR-9 для предвидения исхода лечения. Ряд исследователей [2, 35] показали, что трансфекция miR-200a в клетки HELA способствует регуляции некоторых генов, связанных с метастазированием, таких, как E-кадгеринтранскрипционные репрессоры ZEB1 и могут блокировать перемещение и миграцию раковых клеток и распространение метастазов опухоли.

Исследования М. Korpai и соавторы [1] свидетельствуют, что для определения роли миРНК в патогенезе РШМ был проведен микроматричный анализ 924 тестовых образцов миРНК из биоптатов РШМ и прилежащих здоровых тканей у 13 пациенток. Автор [1] после проведенного анализа обнаружил достоверное повышение экспрессии miR-18 и значительное снижение экспрессии miR-19. Результаты исследования проиллюстрировали, что экспрессия этих миРНК не связана с метастазированием в лимфатические узлы, инвазией сосудов и гистологической дифференцировкой опухоли.

Как отмечает V. Prilepskaia и соавторы [11], аналитическая литературная сводка позволила выделить миРНК, экс-

прессия которых изменяется при ВПЧ-ассоциированных заболеваниях шейки матки (СIN, РШМ): miR-22, -27a, -29a, -100, -25, -92a, -378, -16, -141, -143, -145, -122, -199a, -504. Следовательно, согласно множеству публикаций, для окончательного решения роли миРНК в патогенезе ВПЧ, связанных с патологией шейки матки, необходимо дальнейшее научно-практическое исследование с увеличением аналитически-статистического обзора, которое даст возможность выделить миРНК непосредственно ассоциированными неопластическими процессами и РШМ для усовершенствования более современных подходов к ранней диагностике и предвидения данной патологии.

На основании множества публикаций установлено, что существуют различные профили экспрессии миРНК в тканях при неопластических процессах и вирусных поражениях. В последние годы появились обнадеживающие исследования ученых J. Ahmad и соавторов (2013) [42], демонстрировавшие убедительные данные о связи дисрегуляции миРНК с возникновением и развитием рака, возможно, за счет модуляции апоптоза, метастазирования, трофики злокачественных клеток, и, кроме того, предложено использование миРНК в диагностике, прогнозировании и терапии рака.

Сучасний метод у діагностиці вірусу папіломи людини при захворюваннях шийки матки

П.М. Веропотвелян, І.С. Цехмістренко, М.П. Веропотвелян

У даній оглядовій статті вивчено безліч публікацій, розглянуті новітні молекулярні маркери і їхню роль у прогнозуванні перебігу неопластичного процесу шийки матки.

У даній час активно вивчається мікро-РНК як потужні посттранскрипційні регулятори експресії генів, здатні одночасно моделювати низку генів-мішеней. У літературі виділені мікро-РНК, експресія яких змінюється при ВПЛ (вірус папіломи людини), асоційованих із захворюваннями шийки матки.

У публікаціях робиться акцент, що порушення регуляції мікро-РНК в тканинах може відігравати важливу роль в онкогенезі раку шийки матки (РШМ), тому дослідники інформують, що мікро-РНК як прогностичного фактора, так і терапевтичної опції РШМ, залишається надзвичайно актуальними.

Ключові слова: вірус папіломи людини, цервікальна інтраепітеліальна неоплазія, онкогени, експресія гена, рак шийки матки.

The modern method in the diagnosis of human papillomavirus in cases of the cervix' diseases

P.N. Veropotvelyan, I.S. Tsehmistrenko, M.P. Veropotvelyan

In this review article extensively studied large number of publications are given as well as the latest molecular markers and their role in predicting the course of neoplastic process of the cervix.

Currently micro-RNA as a strong post-transcriptional regulators of gene expression that can simultaneously simulate several target genes are actively studied. The literature highlighted microRNAs whose expression is altered by HPV (human papilloma virus) associated with cervical disease.

The literature emphasizes that dysregulated miRNAs in tissues may play an important role in the tumorigenesis of cervical cancer because the researchers inform that microRNAs as a prognostic factor as well as therapeutic options of cervical cancer remains extremely relevant.

Key words: human papillomavirus, cervical intraepithelial neoplasia, oncogenes, gene expression, cancer of the cervix.

Сведения об авторах

Веропотвелян Петр Николаевич – ОКУ «Межобластной центр медицинской генетики и пренатальной диагностики», 50000, г. Кривой Рог, пл. Освобождения, 3а; тел.: (05642) 92-36-09. E-mail: genetika@ukrpost.ua

Цехмістренко Иван Сергеевич – Перинатальный центр, 03150, г. Киев, ул. Предславинская, 9, Перинатальный центр; тел.: (098) 093-21-22. E-mail: tsehmistrenko.m.d@gmail.com

Веропотвелян Николай Петрович – ОКУ «Межобластной центр медицинской генетики и пренатальной диагностики», 50000, г. Кривой Рог, пл. Освобождения, 3а; тел.: (05642) 92-49-30. E-mail: genetika@ukrpost.ua

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Korpai M. The miR-200 family inhibits epithelial-mesenchymal transition and cancer cell migration by direct targeting of E-cadherin transcriptional repressors ZEB1 and ZEB2 / M. Korpai, E.S. Lee, G. Hu, Y. Kang // J. Biol. Chem. – 2008. – V. 283(22). – P. 14910-4.
- Gregory P.A. The miR-200 family and miR-205 regulate epithelial to mesenchymal transition by targeting ZEB1 and SIP1 / P.A. Gregory, A.G. Bert, E.L. Paterson, S.C. Barry, A. Tsykin, G. Farshid et al. // Nat. Cell Biol. – 2008. – V. 10 (5). – P. 593-601.
- Do T.V. Transforming growth factor- β 1, transforming growth factor- β 2, and transforming growth factor- β 3 enhance ovarian cancer metastatic potential by inducing a Smad3-dependent epithelial-to-mesenchymal transition / T.V. Do, L.A. Kubba, H. Du, C.D. Sturgis, T.K. Woodruff // Mol. Cancer Res. – 2008. – V. 6 (5). – P. 695-705.
- Tang B. TGF- β switches from tumor suppressor to prometastatic factor in a model of breast cancer progression / B. Tang, M. Vu, T. Booker, S.J. Santner, F.R. Miller, M.R. Anver, L.M. Wakefield // J. Clin. Invest. – 2003. – V. 112 (7). – P. 1116-24.
- Lipschutz J.H. Exocyst is involved in cystogenesis and tubulogenesis and acts by modulating synthesis and delivery of basolateral plasma membrane and secretory proteins / J.H. Lipschutz, W. Guo, L.E. O'Brien, Y.H. Nguyen, P. Novick, K.E. Mostov // Mol. Biol. Cell. – 2000. – V. 11 (12). – P. 4259-75.
- Kota J. Therapeutic microRNA delivery suppresses tumorigenesis in a murine liver cancer model / J. Kota, R.R. Chivukula, K.A. O'Donnell, E.A. Wentzel, C.L. Montgomery, H.W. Hwang et al. // Cell. – 2009. – V. 137 (6). – P. 1005-17.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Human papillomavirus-associated cancers – United States, 2004–2008 // MMWR Morb. Mortal Wkly Rep. 61 (15): 258-61.
- Castle P.E. The age-specific relationships of abnormal cytology and human papillomavirus DNA results to the risk of cervical precancer and cancer / P.E. Castle, B. Fetterman, J. Thomas Cox, R. Shaber, N. Poitras, T. Lorey, W. Kinney // Obstet. Gynecol. – 2010. – V. 116 (1). – P. 76-84.
- Wang H.K. Robust production and passaging of infectious HPV in squa-

- mous epithelium of primary human keratinocytes /H.K. Wang, A.A. Duffy, T.R. Broker, L.T. Chow // *Genes Dev.* – 2009. – V. 23 (2). – P. 181–94.
10. Meijer C.J. Detection of human papillomavirus in cervical scrapes by the polymerase chain reaction in relation to cytology: possible implications for cervical cancer screening /C.J. Meijer, A.J. van den Brule, P.J. Snijders, T. Helmerhorst, P. Kenemans, J.M. Walboomers // *IARC Sci. Publ.* – 1992. – V. 119. – P. 271–81.
11. Prilepskaya V.N. HPV-associated cervical disease – new in diagnostics /V.N. Prilepskaya, N.M. Nazarova, G.M. Mzarelua, L.Z. Faizullin, D.Yu. Trofimov // *Obstetrics and gynecology.* – 2015. – V. 11. – P. 20–26.
12. Scheffner M. The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus types 16 and 18 promotes the degradation of p53 /M. Scheffner, B.A. Werness, J.M. Huibregtse, A.J. Levine, P.M. Howley // *Cell.* – 1990. – V. 63 (6). – P. 1129–36.
13. Massad L.S. 2012 ASCCP Consensus Guidelines Conference. 2012 updated consensus guidelines for the management of abnormal cervical cancer screening tests and cancer precursors /L.S. Massad, M.H. Einstein, W.K. Huh, H.A. Katki, W.K. Kinney, M. Schiffman et al. // *Obstet. Gynecol.* – 2013. – V. 121 (4). – P. 829–46.
14. Roman A. The papillomavirus E7 proteins /A. Roman, K. Munger // *Virology.* – 2013. – V. 445 (1–2). – P. 138–68.
15. Wang X. microRNAs are biomarkers of oncogenic human papillomavirus infections /X. Wang, H.K. Wang, Y. Li // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2014. – V. 111 (11). – P. 4262–7.
16. Scheffner M. The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus types 16 and 18 promotes the degradation of p53 /M. Scheffner, B.A. Werness, J.M. Huibregtse, A.J. Levine, P.M. Howley // *Cell.* – 1990. – V. 63 (6). – P. 1129–36.
17. Roman A. The papillomavirus E7 proteins /A. Roman, K. Munger // *Virology.* – 2013. – V. 445 (1–2). – P. 138–68.
18. Khan M.J. The elevated 10-year risk of cervical precancer and cancer in women with human papillomavirus (HPV) type 16 or 18 and the possible utility of type-specific HPV testing in clinical practice /M.J. Khan, P.E. Castle, A.T. Lorincz, S. Wacholder, M. Sherman, D.R. Scott et al. // *J. Natl. Cancer Inst.* – 2005. – V. 97 (14). – P. 1072–9.
19. Murphy N. p16INK4A, CDC6, and MCM5: predictive biomarkers in cervical preinvasive neoplasia and cervical cancer /N. Murphy, M. Ring, C.C. Heffron, B. King, A.G. Killalea, C. Hughes et al. // *J. Clin. Pathol.* – 2005. – V. 58(5). – P. 525–34.
20. Klaes R. Overexpression of p16(INK4A) as a specific marker for dysplastic and neoplastic epithelial cells of the cervix uteri /R. Klaes, T. Friedrich, D. Spitkovsky, R. Ridder, W. Rudy, U. Petry et al. // *Int. J. Cancer.* – 2001. – V. 92(2). – P. 276–84.
21. Lee R.C. The C. elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14 /R.C. Lee, R.L. Feinbaum, V. Ambros // *Cell.* – 1993. – V. 75 (5). – P. 843–54.
22. Reinhart B.J. The 21-nucleotide let-7 RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans* /B.J. Reinhart, F.J. Slack, M. Basson, A.E. Pasquinelli, J.C. Bettinger, A.E. Rougvie et al. // *Nature.* – 2000. – V. 403 (6772). – P. 901–6.
23. Wightman B. Posttranscriptional regulation of the heterochronic gene lin-14 by lin-4 mediates temporal pattern formation in *C. Elegans* /B. Wightman, I. Ha, G. Ruvkun // *Cell.* – 1993. – V. 75 (5). – P. 855–62.
24. Wightman B. Negative regulatory sequences in the lin-14 3'-untranslated region are necessary to generate a temporal switch during *Caenorhabditis elegans* development /B. Wightman, T.R. Bürglin, J. Gatto, P. Arasu, G. Ruvkun // *Genes Dev.* – 1991. – V. 5(10). – P. 1813–24.
25. Lagos-Quintana M. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs /M. Lagos-Quintana, R. Rauhut, W. Lendeckel, T. Tuschl // *Science.* – 2001. – V. 294 (5543). – P. 853–8.
26. Lu J. MicroRNA expression profiles classify human cancers /J. Lu, G. Getz, E.A. Miska, E. Alvarez-Saavedra, J. Lamb, D. Peck et al. // *Nature.* – 2005. – V. 435 (7043). – P. 834–8.
27. Valastyan S. A pleiotropically acting microRNA, miR-31, inhibits breast cancer metastasis /S. Valastyan, F. Reinhardt, N. Benaich, D. Calogrias, A.M. Szász, Z.C. Wang et al. // *Cell.* – 2009. – V. 137 (6). – P. 1032–46.
28. Li B.H. Reduced miR-100 expression in cervical cancer and precursors and its carcinogenic effect through targeting PLK1 protein /B.H. Li, J.S. Zhou, F. Ye, X.D. Cheng, C.Y. Zhou, W.G. Lu, X. Xie // *J. Eur. Cancer.* – 2011. – V. 47 (14). – P. 2166–74.
29. Lee D.Y. MicroRNA-378 promotes cell survival, tumor growth, and angiogenesis by targeting SuFu and Fus-1 expression /D.Y. Lee, Z. Deng, C.H. Wang, B.B. Yang // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2007. – V. 104 (51). – P. 20350–5.
30. Xiong J. Tumor-suppressive microRNA-22 inhibits the transcription of E-box-containing c-Myc target genes by silencing c-Myc binding protein /J. Xiong, Q. Du, Z. Liang // *Oncogene.* – 2010. – V. 29 (35). – P. 4980–8.
31. Zheng Y.S. MiR-100 regulates cell differentiation and survival by targeting RBSP3, a phosphatase-like tumor suppressor in acute myeloid leukemia /Y.S. Zheng, H. Zhang, X.J. Zhang, D.D. Feng, X.Q. Luo, C.W. Zeng et al. // *Oncogene.* – 2012. – V. 31 (1). – P. 80–92.
32. Zheng Z.M. Regulation of cellular miRNA expression by human papillomavirus /Z.M. Zheng, X. Wang // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2011. – V. 1809 (11–12). – P. 668–77.
33. Hua Y. miRConnect 2.0: Identification of oncogenic, antagonistic miRNA families in three human cancers /Y. Hua, N. Larsen, S. Kalyana-Sundaram, J. Kjemis, A.M. Chinnaiyan, M.E. Peter // *BMC Genomics.* – 2013. – V. 14. – P. 179.
34. Pasquinelli A.E. Conservation of the sequence and temporal expression of let-7 heterochronic regulatory RNA /A.E. Pasquinelli, B.J. Reinhart, F. Slack, M.Q. Martindale, M.I. Kuroda, B. Maller et al. // *Nature.* – 2000. – V. 408(6808). – P. 86–9.
35. Wang X. A PCR-based platform for microRNA expression profiling studies /X. Wang // *RNA.* – 2009. – V. 15 (4). – P. 716–23.
36. Marchini S. Association between miR-200c and the survival of patients with stage I epithelial ovarian cancer: a retrospective study of two independent tumour tissue collections /S. Marchini, D. Cavalieri, R. Fruscio, E. Calura, D. Garavaglia, I. Fuso Nerini et al. // *Lancet Oncol.* – 2011. – V. 12 (3). – P. 273–85.
37. Della Vittoria Scarpati G. A speci?c miRNA signature correlates with complete pathological response to neoadjuvant chemoradiotherapy in locally advanced rectal cancer /G. Della Vittoria Scarpati, F. Falchetta, C. Carlomagno, P. Ubezio, S. Marchini, A. De Stefano et al. // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* – 2012. – V. 83 (4). – P. 1113–9.
38. Wang X. Aberrant expression of oncogenic and tumor-suppressive microRNAs in cervical cancer is required for cancer cell growth /X. Wang, S. Tang, S.Y. Le, R. Lu, J.S. Rader, C. Meyers, Z.M. Zheng // *PLoS One.* – 2008. – V. 3 (7). – P. 2557.
39. Wang F. miR-375 is down-regulated in squamous cervical cancer and inhibits cell migration and invasion via targeting transcription factor SP1 /F. Wang, Y. Li, J. Zhou, J. Xu, C. Peng, F. Ye et al. // *Am. J. Pathol.* – 2011. – V. 179 (5). – P. 2580–8.
40. Li J.H. MicroRNA miR-886-5p inhibits apoptosis by down-regulating Bax expression in human cervical carcinoma cells /J.H. Li, X. Xiao, Y.N. Zhang, Y.M. Wang, L.M. Feng, Y.M. Wu, Y.X. Zhang // *Gynecol. Oncol.* – 2011. – V. 120 (1). – P. 145–51.
41. Hu X. A microRNA expression signature for cervical cancer prognosis /X. Hu, J.K. Schwarz, J.S. Jr. Lewis, P.C. Huettner, J.S. Rader, J.O. Deasy et al. // *Cancer Res.* – 2010. – V. 70 (4). – P. 1441–8.
42. Ahmad J. MicroRNA in carcinogenesis & cancer diagnostics: a new paradigm /J. Ahmad, S.E. Hasnain, M.A. Siddiqui, M. Ahamed, J. Musarrat, A.A. Al-Khedhairi // *Indian J. Med. Res.* – 2013. – V. 137(4). – P. 680–94.
43. Guzov I.I. Clinical aspects of molecular genetic diagnosis of human papillomavirus in women /I.I. Guzov – *Proceedings of the conference «Integration in laboratory medicine».* – Moscow. – 2012.
44. Pedroza-Torres A. MicroRNAs in Cervical Cancer: Evidences for a miRNA Profile Deregulated by HPV and Its Impact on Radio-Resistance /A. Pedroza-Torres et al. // *Molecules* 2014, 19, 6263–6281; doi: 10.3390/molecules19056263
45. Preventing Cervical Cancer: A Guide for Physicians. – M.: MEDpress-2007; 56.

Статья поступила в редакцию 30.12.2015